Module de génétique

Dr Boudiaf Benaferi R.

CARYOTYPE

1-INTRODUCTION :

Le matériel génétique des eucaryotes est réparti en plusieurs chromosomes dont le nombre est caractéristique de l'espèce.
La majorité des eucaryotes possèdent deux copies de chaque chromosome. Les cellules sont dites diploïdes.
Les deux chromosomes d'une même paire sont dits homologues. Les chromosomes appartenant à des paires différentes sont non homologues.
Le caryotype indique la totalité du matériel chromosomique.
La cytogénétique s'intéresse à l'étude des chromosomes normaux et anormaux.

Le nombre exacte des chromosomes humains a été établit en 1956.
La cytogénétique se base sur l'observation du noyau cellulaire, en microscopie optique, en métaphase(chromosomes) et en interphase (chromatine).

2-ETUDE DU CARYOTYPE HUMAIN :

♦Définition :

Le caryotype décrit le nombre et l'aspect des chromosomes (taille, forme, disposition du centromère et bandes).
Les chromosomes sont classés en plusieurs groupes et numérotés selon la nomenclature internationale: ISCN : International System for human Cytogenetic Nomenclature.

♦Description :

►Le nombre :

La cellule humain a 46 chromosomes (23 paires : 22paires d'autosomes et une paire de gonosomes : XX pour la femme et XY pour l'homme).

► Morphologie du chromosome métaphasique :

Le chromosome métaphasique est constitué de deux chromatides identiques attachées par le centromère (constriction primaire).
Les chromosomes diffèrent par la taille, la disposition du centromère et la présence de satellite (constrictions secondaires).
Le centromère divise le chromosome en bras long (q) et en bras court (p).
Il existe trois types de chromosomes dans l'espèce humaine :

• Médiocentrique ou métacentrique : quand le centromère est central, les bras p et q sont égaux (p=q). C'est le cas des chromosomes 1, 3, 16,19 et 20.
• Acrocentrique : quand le centromère se trouve près de l'une des extrémités. C'est le cas des chromosomes : 13, 14, 15, 21,22 et Y.
• Submétacentrique : quand le bras p est légèrement plus petit que le bras q. C'est le cas du chromosome 2.
Il existe un autre type de chromosome qu'on ne retrouve pas dans l'espèce humaine ; c'est les chromosomes télocentriques : le centromère est tout à fait à l'extrémité ;le chromosome est constitué que d'un seul type de bras (forme de v renversé).

Dans le caryotype, les chromosomes sont classés en 7 groupes du plus grand au plus petit :
• Groupe A : 1, 2, 3.
• Groupe B : 4, 5.
• Groupe C : 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, X.
• Groupe D : 13, 14, 15.
• Groupe E : 16, 17, 18.
• Groupe F : 19, 20.
• Groupe G : 21, 22, Y.

♦Techniques d'obtention du caryotype

On peut faire un caryotype à partir de plusieurs types de cellules qui ont la capacité de se multiplier facilement : fibroblastes, cellules amniotiques, cellules de la moelle osseuse rouge hématogène et enfin les cellules les plus utilisées :les lymphocytes.

• On cultive des lymphocytes, à partir de quelques gouttes de sang, dans un milieu nutritif auquel on ajoute une substance qui déclenche la division cellulaire (agent mitogène) : la phytohémagglutinine(PHA).
• Après 72 heures à 37°C, lorsque les mitoses sont déclenchées, on ajoute à la culture une substance antimitotique : la colchicine qui détruit les microtubules achromatiques du fuseau mitotique donc empêche les chromosomes de migrer. Les cellules restent ainsi bloquées en métaphase.
• On fait gonfler les cellules (choc hypotonique) pour que les chromosomes se dispersent.
• On fixe les chromosomes avec un mélange acide-alcool.
• On les étale sur les lames.
• On colore ; au Giemsa pour la technique la plus simple, puis on observe au microscope optique :

On choisit une mitose ou les chromosomes sont bien individualisés, on prend une photo. Après agrandissement, on découpe les chromosomes et on les classe enfin selon la nomenclature internationale.
Il existe des logiciels qui permettent le classement sur ordinateur.

♦Les techniques de marquage des chromosomes

La classification des chromosomes selon la position des centromères et la longueur des bras a été rapidement dépassée depuis l'apparition des techniques de marquage en 1970.
Ces techniques de bandes permettent d'individualiser chaque chromosome par des bandes caractéristiques et permet une classification précise.

Ces méthodes permettent de visualiser 300 à 500 bandes par lot haploïde de chromosomes

→ Les bandes Q
Ce sont les bandes fluorescentes à la quinacrine, l'observation se fait avec un microscope à rayons UV.
Il apparaît une alternance de bandes fluorescentes et de bandes non fluorescentes.
Le banding Q colore les régions riches en Adenine et Thymine.

→ Les bandes G :
Les chromosomes sont traités à la trypsine(enzyme) puis colorés au Giemsa. Ils sont ensuite observés au microscope optique ordinaire.
Les résultats sont les mêmes que le banding Q (bandes sombres correspondant aux bandes fluorescentes et bandes claires aux bandes non fluorescentes).

→ Les bandes R (Reverse) :
Les chromosomes sont traités par la chaleur puis colorés au giemsa.
Les bandes obtenues sont inverses par rapport aux deux techniques précédentes, elle colore ainsi les régions riches en Cytosine et Guanine.

→Les bandes C (Centromère) :

C'est une technique qui colore surtout les centromères et la partie distale du chromosome Y.

→Les bandes T (Télomère) :

C'est une technique qui colore surtout les télomères (extrémités des chromosomes).

♦Les techniques spéciales

Technique de bandes en haute résolution :

Analyse fine du caryotype par l'étude, après coloration en bandes G ou R, des cellules en prométaphase (fin de prophase ou début de métaphase) ce qui permet le passage d'un système de 300 bandes à un système de plus de 1000 bandes par lot haploïde.
Le chromosome est moins condensé qu'en métaphase donc on peut détecter des anomalies qui n'apparaissent pas sur un caryotype classique(les microdélétions).

Cytogénétique moléculaire :

Utilise des sondes d'ADN marquées spécifiques, complémentaires à des régions du chromosome qu'on veut explorer exp:

- FISH : hybridation in situ en fluorescence : utilisation de sondes d'ADN fluorescentes pour idantifier de manière ciblée les microremaniements chromosomiques non détectable par le caryotype classique.

3-INDICATIONS DU CARYOTYPES :

- MALFORMATIONS CONGENITALES (multiples++)
- RETARD DE CROISSANCE exp: syndrome de Turner
- RETARD MENTAL
- AVORTEMENTS A REPETITION+++
- STERILITE exp : syndrome de klinefelter
- Antécédents DE MALADIES CHROMOSOMIQUES DANS LA FAMILLE
- AMBIGUITE SEXUELLE
- CERTAINS CANCERS

4-Etude cytogénétique du noyau en interphase

C'est l'étude de la répartition de la chromatine dans le noyau interphasique.

Exemples:

- **corpuscule de Barr**: c'est une petite masse d'hétérochromatine triangulaire plaquée contre la face interne de la membrane nucléaire. On le recherche dans le syndrome de turner, klinefelter, ambiguité sexuelle.

-La coloration de cellules masculines à la quinacrine permet de révéler un point brillant au sein du noyau, ce qui correspond à une partie du chromosome Y.

La cytogénétique moléculaire peut s'appliquer également sur des noyaux interphasiques pour detecter des anomalies de nombre et de structure.